



lénaires qui trouvent leur origine dans la médecine traditionnelle. Il faut cependant se garder de confondre la *guggle gum* indienne, dont est extraite la *gugglesterone* hypocholestérolémiante, et la myrrhe offerte par les rois mages à

l'enfant Jésus. Bien que très proches, les arbustes qui les produisent sont originaires de régions différentes, l'Éthiopie et l'Arabie pour la myrrhe (*commiphora myrra*), l'Inde pour la *guggle gum* (*commiphora mukul*). Il se peut bien que ce

produit précieux, recherché dans l'Antiquité pour toutes sortes de vertus, ne revienne à la mode dans notre monde moderne à cause de ses propriétés hypocholestérolémiantes ! ♦

**Indian guggle gum to lower cholesterol**

## NOUVELLE

### Le couple Cbl-CIN85 essentiel à l'endocytose des récepteurs

Philippe Soubeyran

► L'activation d'un récepteur par la liaison de son ligand soluble à la surface de la cellule peut déclencher son auto-phosphorylation. Survient ensuite le recrutement de diverses molécules accessoires sur la partie cytoplasmique du récepteur, et leur activation, déclenchant celle de multiples voies de signalisation intracellulaires, dont la plupart se caractérisent par des cascades de phosphorylation-activation des protéines impliquées. Les réponses engendrées sont variées, et affectent de nombreuses fonctions physiologiques de la cellule

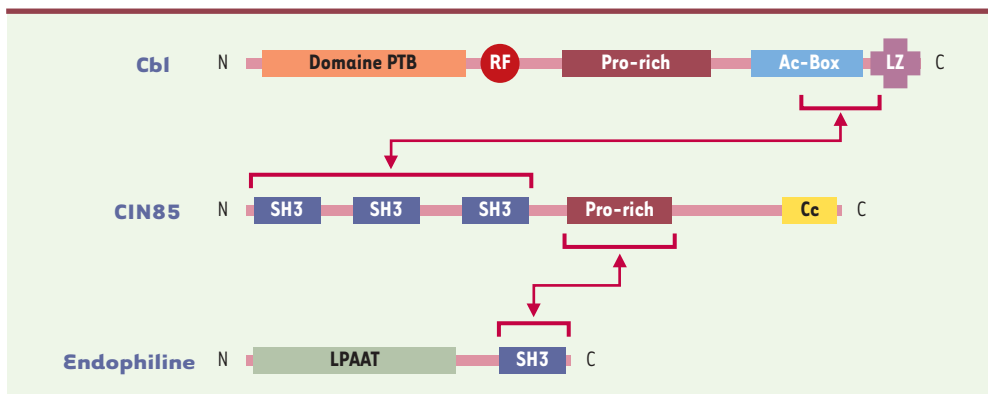
comme la prolifération, la migration, ou la différenciation cellulaire.

La plupart des voies de signalisation sont dotées d'un mécanisme de rétrocontrôle négatif qui limite la durée du signal et prévient une stimulation excessive de la cellule. La perturbation de cet équilibre peut engendrer des situations pathologiques dont le développement tumoral. L'une des façons d'arrêter le signal consiste à retirer physiquement le récepteur activé de la surface cellulaire, par internalisation. En effet, à la suite de leur activation, les

récepteurs sont rapidement ubiquitinylés, internalisés par un mécanisme d'endocytose contrôlé par les protéines « clathrine » qui s'organisent en forme de cage autour de la vésicule en formation, facilitant

ainsi son invagination, et dégradés par un processus impliquant à la fois le protéasome et le lysosome [1]. Notre équipe [2], et celle de S. Giordano [3], ont éclairci le mécanisme d'internalisation de deux types de récepteurs, celui de l'EGF (*epidermal growth factor*) et celui de l'HGF (*hepatocyte growth factor*), en identifiant un partenaire essentiel, CIN85. C'est un couple, fait de Cbl et CIN85, qui fait le lien entre les récepteurs activés et les protéines endophilines qui contrôlent l'endocytose dépendante de la clathrine. Cbl est une protéine adaptatrice se

liant à de nombreuses molécules de signalisation (Figure 1), membre d'une famille plus large qui contient d'autres protéines, Cbl-b et Cbl-3 [4]. Cbl est dotée, à son extrémité N-terminale, d'un domaine de liaison aux kinases activées PTB (*phosphotyrosine tyrosine binding*), et d'un domaine *ring finger*, qui catalyse le transfert de molécules d'ubiquitine de l'enzyme de conjugaison de l'ubiquitine vers la molécule cible (la kinase). L'extrémité C-terminale de Cbl comprend plusieurs domaines d'interaction moléculaire avec de nombreuses protéines de signalisation : (1) un



**Figure 1. Représentation schématique du rôle de Cbl, CIN85, et des endophilines dans l'internalisation des récepteurs.** Le mode d'interaction des trois protéines conduisant à la formation du complexe trimérique responsable de l'internalisation des récepteurs activés est illustré. Le domaine PTB (*phosphotyrosine binding domain*) se lie aux récepteurs activés. Le domaine *ring finger* (RF) confère l'activité de ligase de l'ubiquitine ; Pro-Rich : région riche en résidu proline ; Ac-Box (*acidic box*) contient plusieurs résidus tyrosine phosphorylables ; LZ (*leucine zipper*) : domaine impliqué dans la dimérisation de Cbl ; SH3 (*Src homology 3*) : domaine qui se lie à des motifs proline PxxP ; Cc (*coiled-coil*) : domaine impliqué dans l'oligomérisation de CIN85 ; LPAAT : activité acide lysophosphatidique acyltransférase des endophilines.

domaine riche en résidus proline, qui contient plusieurs « motifs PxxP », sites de liaison à des domaines SH3 (*Src homology 3*) présents dans les protéines associées ; (2) un domaine acide, avec plusieurs résidus tyrosine phosphorylables, permet l'interaction avec des protéines contenant un domaine SH2 (*Src homology 2*) ; (3) enfin, un domaine *leucine zipper* intervient dans la dimérisation de Cbl.

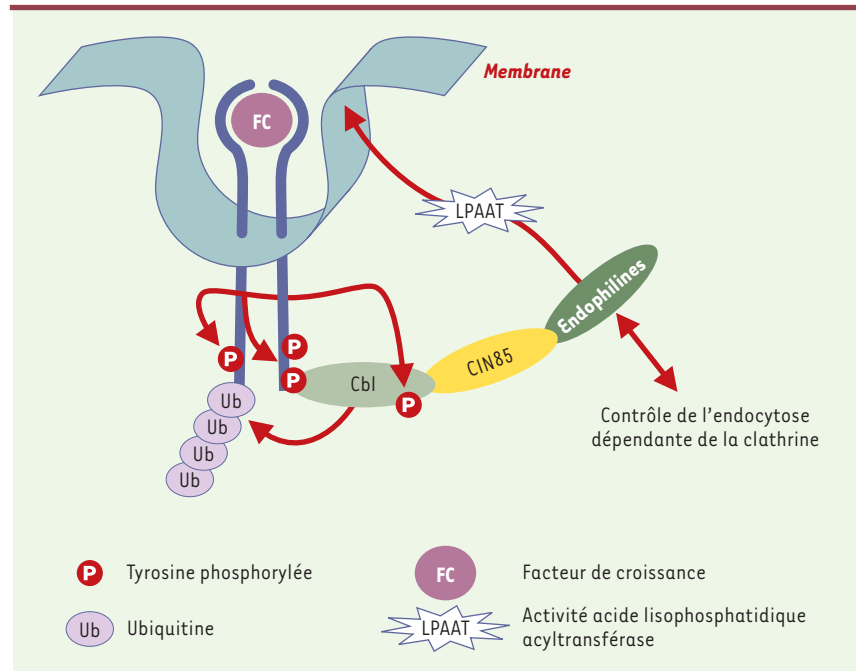
La fonction de Cbl en aval des récepteurs est double, puisqu'elle agit aussi bien comme effecteur des voies de signalisation que comme régulateur négatif [4]. Pour remplir son premier rôle, elle est rapidement recrutée et phosphorylée par les récepteurs activés et transmet le signal à d'autres effecteurs ; quant au second, qui limite l'activation du récepteur, elle l'exécute grâce à son activité de ligase de l'ubiquitine, et catalyse l'ajout de molécules ubiquitine sur ce dernier, entraînant sa destruction.

La recherche de nouveaux partenaires de Cbl nous a conduits à identifier la protéine CIN85 [2] (Figure 1). CIN85 est, elle aussi, une protéine multi-adaptatrice qui contient dans sa moitié N-terminale trois domaines SH3, et en C-terminal une région riche en résidus proline et un domaine *coiled-coil* permettant son oligomérisation [5]. Nous avons démontré que CIN85 est capable de se lier indistinctement à tous les membres de la famille des protéines endophilines (Figure 1). Les endophilines sont dotées d'une activité enzymatique LPAAT (*lysophosphatidic acid acyl transferase*) permettant de modifier des phospholipides membranaires, et elles contiennent un domaine SH3 C-terminal (Figure 1) [6]. Elles interagissent directement avec des facteurs contrôlant l'endocytose dépendante de la clathrine (dynamine, synaptojanine) et avec la membrane plasmique. L'importance de leur fonction dans la régulation du processus d'endocytose fut révélée par leur capacité d'induire une courbure de la membrane plasmique et, plus récemment, par l'observation chez la drosophile d'un blocage de l'endocytose en l'absence d'endophiline [7]. Nous avons démontré que, dans la cellule, le domaine riche en

proline de CIN85 se lie de manière constitutive au domaine SH3 des endophilines. En revanche, les trois domaines SH3 de CIN85 n'interagissent avec la partie C-terminale de Cbl que si celle-ci est phosphorylée (Figure 1). Parallèlement, l'équipe de S. Giordano qui, elle, recherchait des partenaires des endophilines, a aussi identifié la protéine CIN85 [3].

Ainsi, la fixation du ligand sur son récepteur induit la formation d'un complexe, comprenant quatre partenaires : le récepteur phosphorylé, Cbl phosphorylée par le récepteur, CIN85 et l'endophiline, qui favorisent l'internalisation du récepteur (Figure 2). La preuve de l'importance de ce complexe est apportée par l'effet délétère observé avec des protéines CIN85 mutantes, que ce soit une forme dépourvue de sa partie C-terminale et donc incapable de se lier aux endophilines, ou une forme ne contenant pas la région N-terminale et

donc incapable d'interagir avec Cbl. L'expression de ces formes mutantes a eu pour effet d'inhiber l'internalisation des récepteurs de l'EGF, de retarder leur dégradation, et ainsi de favoriser la transcription des gènes cibles codant pour l'EGF [2]. Des effets similaires ont été observés dans les expériences où la cible était le récepteur du HGF [3]. Cependant, quel que soit le mutant CIN85 utilisé, l'ubiquitinylation des récepteurs par Cbl n'a pas été affectée. Ces travaux identifient la place essentielle du couple Cbl/CIN85 comme lien direct entre les récepteurs activés et le processus d'endocytose dépendante de la clathrine. La rupture de ce lien retarde l'internalisation et la dégradation des récepteurs et conduit à une amplification du signal émis. Ces résultats ont aussi mis en évidence une nouvelle fonction de régulation négative pour la protéine Cbl, qui est indépendante de son



**Figure 2. Modèle d'internalisation.** La reconnaissance du facteur de croissance par le récepteur entraîne sa dimérisation suivie d'une auto-phosphorylation de sa partie cytoplasmique. Cbl se lie au récepteur activé au niveau de résidus tyrosine phosphorylés et est en retour phosphorylée par le récepteur. Cette dernière modification permet le recrutement de CIN85 constitutivement associée aux endophilines. Les endophilines, qui modifient le contenu phospholipidique de la membrane et qui interagissent avec de nombreux facteurs réglant la formation du manteau de clathrine, induisent une invagination de la membrane puis la formation d'une vésicule d'endocytose. Ainsi, la formation du complexe Cbl/CIN85/endophiline avec le récepteur facilite l'internalisation du récepteur.



activité ligase de l'ubiquitine. Cette fonction repose sur son interaction avec CIN85 qui est un intermédiaire primordial entre les récepteurs activés et la machinerie d'endocytose. On sait que CIN85 interagit aussi avec de nombreuses autres protéines impliquées dans le cheminement intracellulaire des vésicules d'endocytose [8]. Il est donc probable que CIN85 intervient sur le trafic des vésicules d'endocytose en contrôlant, par exemple, l'adressage des récepteurs au lysosome. Cette hypothèse est actuellement en cours d'investigation. Il ne fait aucun doute que CIN85 n'a pas encore révélé tous ses secrets. ♦

#### Cbl associates with CIN85 to promote receptor endocytosis

## RÉFÉRENCES

1. Bonifacino JS, Weissman AM. Ubiquitin and the control of protein fate in the secretory and endocytic pathways. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1998 ; 14 : 19-57.
2. Soubeyran P, Kowanez K, Szymkiewicz I, Langdon WY, Dikic I. Cbl-CIN85-endophilin complex mediates ligand-induced downregulation of EGF receptors. *Nature* 2002 ; 416 : 183-7.
3. Petrelli A, Gilestro GF, Lanzardo S, Comoglio PM, Migone N, Giordano S. The endophilin-CIN85-Cbl complex mediates ligand-dependent downregulation of c-Met. *Nature* 2002 ; 416 : 187-90.
4. Thien CB, Langdon WY. Cbl: many adaptations to regulate protein tyrosine kinases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001 ; 2 : 294-307.
5. Take H, Watanabe S, Takeda K, Yu ZX, Iwata N, Kajigaya S. Cloning and characterization of a novel adaptor protein, CIN85, that interacts with c-Cbl. *Biochem Biophys Res Commun* 2000 ; 268 : 321-8.
6. Huttner WB, Schmidt A. Lipids, lipid modification and lipid-protein interaction in membrane budding and fission-insights from the roles of endophilin A1 and synaptophysin in synaptic vesicle endocytosis. *Curr Opin Neurobiol* 2000 ; 10 : 543-51.
7. Verstreken P, Kjaerulff O, Lloyd TE, et al. Endophilin mutations block clathrin-mediated endocytosis but not neurotransmitter release. *Cell* 2002 ; 109 : 101-12.
8. Watanabe S, Take H, Takeda K, Yu ZX, Iwata N, Kajigaya S. Characterization of the CIN85 adaptor protein and identification of components involved in CIN85 complexes. *Biochem Biophys Res Commun* 2000 ; 278 : 167-74.

## NOUVELLE

### Nouveaux regards sur les mosaïques et chimères humaines

Simone Gilgenkrantz

9, rue Basse, 54330 Cléry-sur-Brenon, France.

> La plupart des êtres humains disposent d'un patrimoine (les 23 chromosomes du spermatozoïde paternel) et d'un patrimoine (les 23 chromosomes de l'ovule maternel), mais certains ont des héritages beaucoup plus complexes. Grâce aux moyens actuels d'investigation du génome, il est possible désormais de déceler d'étranges anomalies de fécondation, qui sont peut-être plus nombreuses qu'on ne l'imaginait jusqu'alors. Il faut donc désormais y penser et les rechercher dans certains processus pathologiques.

#### Hermaphrodites vrais\* et autres jumeaux fusionnés

Dès les années 1970, l'étude du caryotype

démontra que certains sujets présentant, comme seule manifestation clinique, une ambiguïté sexuelle, étaient en réalité des êtres doubles, produits de la fusion précoce de deux zygotes. Cette ambiguïté peut du reste passer inaperçue.

Ainsi, elle n'avait pas été notée chez ce garçon, enregistré comme tel à la naissance. Lorsque vers 14 ans, en 1987, il développa une gynécomastie, on découvrit qu'il était porteur d'un caryotype 46,XX/46,XY, avec un ovaire « cryptorchide » responsable de ce début de puberté féminine. Il fallut alors se résoudre à l'ablation de la seule glande sexuelle fonctionnelle et recourir à un traitement hormonal mâle substitutif, car cet enfant, s'identifiant comme un garçon, refusait farouchement de se voir transformé en fille [1]. À l'époque, la connaissance du génome humain était insuffisante pour

permettre de retrouver l'origine du matériel génétique de chacun des deux zygotes qui avaient fusionné pour lui donner naissance.

Devant de tels sujets, tout au plus pouvait-on faire l'hypothèse de la fusion de deux œufs s'il existait à la fois un double héritage paternel et maternel ; s'il n'existait qu'un seul héritage maternel pour deux héritages paternels, c'est le second globule polaire qui était supposé fournir la part féminine du deuxième zygote (Figure 1). Plus récemment, par l'analyse moléculaire des deux populations cellulaires, un auteur anglais a pu démontrer, chez un autre hermaphrodite vrai, la double origine zygotique. L'analyse de différents tissus démontra en outre que la répartition des cellules masculines et des cellules féminines n'était pas homogène [2].

Ce même auteur a observé une autre ano-

\* L'hermaphrodite vrai possède des gonades ou du tissu gonadique masculin et féminin (ovaire, testicule ou ovotestis), contrairement aux pseudo-hermaphrodites qui ne possèdent qu'un type de gonade.